



(19)

Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 1 167 538 A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(43) Veröffentlichungstag:
02.01.2002 Patentblatt 2002/01

(51) Int Cl.7: C12Q 1/00, G01N 27/30

(21) Anmeldenummer: 00113906.2

(22) Anmeldetag: 30.06.2000

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE

Benannte Erstreckungsstaaten:

AL LT LV MK RO SI

(71) Anmelder: Schibli Engineering GmbH
4503 Solothurn (CH)(72) Erfinder: Schibli, Peter Urs
4503 Solothurn (CH)(74) Vertreter: Störle, Christian, Dr. et al
Geyer, Fehners & Partner, Perhamerstrasse 31
80687 München (DE)

(54) Biosensor und Herstellverfahren dafür

(57) Die Anmeldung betrifft einen Biosensor zum Bestimmen von Substanzen in Körperflüssigkeiten, insbesondere in Blut, mit einer zweiteiligen Trägerplatte, wobei das eine Teil der Trägerplatte ein Oberteil und das andere Teil ein Unterteil darstellt, und einer zwischen Oberteil und Unterteil liegenden Zwischenlage in der ein Schlitz gebildet ist, wobei Oberteil, Unterteil und Schlitz einen Kapillarkanal bilden, der von einer am Rand des Biosensors gebildeten Auftragsöffnung zu einem im Ober- oder Unterteil gebildeten Luftloch verläuft, und

Elektroden vorgesehen sind, die zusammen mit einer enzymhaltigen Substanz eine elektrochemische Messung von in Körperflüssigkeiten befindlichen Substanzen erlauben, wobei das Oberteil und das Unterteil im Bereich des Kapillarkanals mindestens je eine Elektrode trägt, die paarweise gegenüberliegen und so angeordnet sind, daß beide Elektrodenpaare im Kapillarkanal liegende Meßbereiche bilden, wobei auf mindestens einer Elektrode jedes Elektrodenpaares eine enzymhafte Substanz aufgebracht ist.

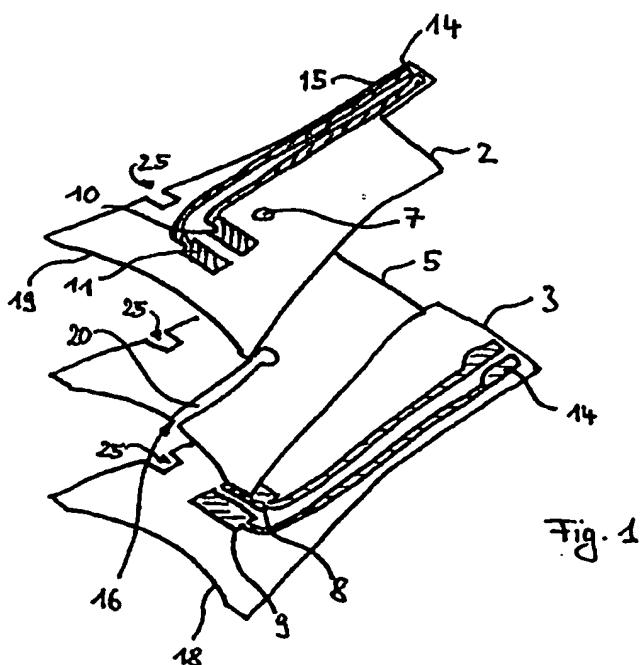


Fig. 1

PTO 2002-5072
S.T.I.C. Translations Branch

EP 1 167 538 A1

Beschreibung

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf einen Biosensor zum Bestimmen von Substanzen in Körperflüssigkeiten sowie ein Herstellerverfahren für einen solchen Biosensor.

[0002] Die Bestimmung von Substanzen in Körperflüssigkeiten mittels Biosensoren ist bekannt. Beispielsweise kann man Glucose im Harn oder im Blut mittels des Enzmays Glucoseoxidase bestimmen (vgl. Carlson, "Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler", 11. Auflage, S. 189). Zur Durchführung wird z. B. die in einem Bluttropfen enthaltene Glucose durch Glucoseoxidase zu Gluconolacton oxidiert. Die dabei freiwerdenden Elektronen reduzieren das Enzym Glucoseoxidase, welches wiederum Elektronen auf einen Mediator, z. B. Ferrocen, überträgt, wobei das Enzym seinerseits oxidiert wird. Vom Mediator können die Elektronen auf eine Elektrode übertragen werden, so daß bei Anlegen einer Spannung ein Mikrostrom fließt. Dieser Strom kann als Maß für den Glucosegehalt der Blutprobe verwendet werden. Diese enzymatische Reaktion wird in einem Biosensor also elektrochemisch erfaßt, indem nach Anlegen einer Spannung ein Strom zwischen zwei Elektroden gemessen wird. Nach diesem Prinzip arbeitende Biosensoren sind beispielsweise aus der US-PS 5,264,130, der US-PS 5,264,106 oder der EP-A 0 359 831 bekannt.

[0003] Letztere Druckschrift, von der im Oberbegriff des Anspruchs 1 ausgegangen wurde, zeigt einen aus einer zweiteiligen Trägerplatte aufgebauten Biosensor, wobei ein Teil das Oberteil und das andere Teil das Unterteil darstellt, und zwischen Ober- und Unterteil eine Zwischenlage vorgesehen ist, in der sich ein Schlitz befindet. Dieser Schlitz endet einerseits in einem Luftloch und andererseits in einer Öffnung im Rande des Biosensors, an der Körperflüssigkeit zugeführt wird. Auf dem Unterteil ist im Bereich des Schlitzes eine Elektrodenanordnung und eine enzymhaltige Substanz vorgesehen, mit der die erwähnte elektrochemische Messung von Substanzen möglich ist.

[0004] Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, einen gattungsgemäßen Biosensor hinsichtlich seiner Nachweiseigenschaften zu verbessern und ein Herstellerverfahren für einen solchen Biosensor anzugeben.

[0005] Erfindungsgemäß wird bei einem Biosensor zum Bestimmen von Substanzen in Körperflüssigkeiten mit einer zweiteiligen Trägerplatte, wobei das eine Teil der Trägerplatte ein Oberteil und das andere Teil ein Unterteil darstellt, und einer zwischen Oberteil und Unterteil liegenden Zwischenlage in der ein Schlitz gebildet ist, wobei Oberteil, Unterteil und Schlitz einen Kapillarkanal bilden, der von einer am Rand des Biosensors gebildeten Auftragsöffnung zu einem im Ober- oder Unterteil gebildeten Luftloch verläuft, und Elektroden vorgesehen sind, die zusammen mit einer enzymhaltigen Substanz eine elektrochemische Messung von in Körperflüssigkeiten befindlichen Substanzen erlauben, die-

se Aufgabe dadurch gelöst, daß das Oberteil und das Unterteil im Bereich des Kapillarkanals mindestens jeweils eine Elektrode tragen, wobei die Elektroden paarweise gegenüberliegen und so angeordnet sind, daß jedes der Elektrodenpaar einen im Kapillarkanal liegenden Meßbereich bildet, wobei auf mindestens einer Elektrode mindestens eines Elektrodenpaares eine enzymhaltige Substanz aufgebracht ist,

[0006] Wesentlich für dieses erfindungsgemäße Konzept ist, daß die Elektroden nicht ausschließlich auf dem Unterteil eines mehrteiligen Sensor liegen. Statt dessen wird die auf dem Oberteil zur Verfügung stehende Fläche erfindungsgemäß ebenfalls mit Elektroden bestückt, so daß die Elektroden paarweise gegenüberliegen.

[0007] Dieser Biosensor hat den Vorteil, daß durch die paarweise gegenüberliegenden Elektroden die wirksame Elektrodenfläche gegenüber dem Stand der Technik stark vergrößert ist. Dadurch steigt das direkt von der Elektrodenfläche abhängende Nutzsignal bei einer elektrochemischen Messung. Somit ist das Signal/Rausch-Verhältnis deutlich verbessert, wodurch die mit dem Biosensor erreichbaren Nachweisgrenzen für die zu erfassenden Substanzen sinkt. Das verbesserte Signal/Rausch-Verhältnis macht es möglich, Analysen mit einer geringeren Körperflüssigkeitsmenge durchzuführen, beispielsweise ist die für eine Blutzuckermessung nötige Mindestblutmenge deutlich geringer, was für den Patienten angenehmer, weil weniger schmerzempfindlich bei Abnahme eines Bluttropfens ist.

[0008] Die Elektroden paarweise gegenüber liegend anzurichten, hat weiter den Vorteil, daß nahezu beliebig viele Elektrodenpaare im Kapillarkanal hintereinander liegend vorgesehen werden können. Dies ermöglicht es nicht nur eine, sondern gleich mehrere Substanzen in einer Körperflüssigkeitsmeßprobe nachzuweisen.

[0009] Da die Elektroden paarweise gegenüberliegen, ergibt sich weiter der Vorteil, daß die zu analysierende Körperflüssigkeit genau zwischen allen Elektrodenpaaren durchströmt und nicht nacheinander über paarweise zugeordnete hintereinanderliegende Elektroden hinwegläuft. Der von den Elektroden aufgenommene Strom fließt also quer zur Fließrichtung der Körperflüssigkeit, was unter Gesichtspunkten der Meßgenauigkeit vorteilhaft ist, da das Meßsignal mit dem Eintreten der Körperflüssigkeit in den Zwischenraum zwischen jedem Elektrodenpaar sprungartiger ansteigt, als wenn die Flüssigkeit über hintereinanderliegende Elektroden fließen würde. Somit ist die für eine Analyse nötige Mindestmenge an Körperflüssigkeit weiter abgesenkt.

[0010] Besondere fertigungstechnische Vorteile ergeben sich, wenn eine Trägerplatte verwendet wird, die entlang einer Knickecke zusammengeklappt ist, d. h. wenn das Ober- und Unterteil Teile einer einstückigen Trägerplatte sind. Dies vereinfacht Aufbringen und Kontaktieren der Elektroden, da es vor dem Zusammenklappen in einem Arbeitsschritt und auf eine Fläche ei-

nes Bauteiles erfolgen kann. Darüber hinaus wird durch das Zusammenklappen der Trägerplatte entlang einer Ober- und Unterteil trennenden Knicklinie eine besonders gute Passung der paarweise gegenüberliegenden Elektroden sichergestellt, wodurch Paß- und Justierstrukturen unnötig sind. Auch ist das Aufbringen der enzymhaltigen Substanz auf der Trägerplatte vor dem Zusammenklappen einfacher. Dieses Konzept ermöglicht es weiter, die den Schlitz aufweisende Zwischenlage relativ einfach, beispielsweise durch ein Siebdruckverfahren, auf die Trägerplatte aufzubringen.

[0011] In dieser Weiterbildung kann man dann, da die Elektroden in einem Arbeitsschritt auf die Trägerplatte vor dem Zusammenklappen aufbringbar sind, alle Elektroden über Kontakte kontaktieren, die entweder auf dem Ober- oder auf dem Unterteil liegen. Vorzugweise ist dazu ein im zusammengeklappten Zustand überstehender die Kontakte tragender Abschnitt am Ober- oder Unterteil vorgesehen, der zum Einsticken in ein Auswertegerät ausgebildet ist, das dann über die Kontakte eine elektrische Verbindung zu den Elektroden herstellt. [0012] Für das Material für Ober- und Unterteil bzw. die Trägerplatte kommt jede Substanz in Frage, die zum einen ausreichend inert bezüglich der zu analysierenden Körperflüssigkeit und der Enzympaste ist, um Querempfindlichkeiten und Meßfehler zu vermeiden, und die zum anderen durch ihre Benetzungseigenschaften eine Kapillarwirkung im Kapillarkanal ermöglicht. Besonders bevorzugt sind dünne Folien, wobei Kapton oder Polyester aus Kostengesichtspunkten vorteilhaft ist. Zur Versteifung kann man eine stabilisierende Unterschicht unter der Folie des Unterteils vorsehen; dann können die Folien besonders dünn gewählt werden.

[0013] Die Auftragsöffnung zum Einbringen der zu analysierenden Körperflüssigkeit in den Kapillarkanal kann prinzipiell überall liegen. Er muß bloß bis an einen Rand des Biosensors reichen, beispielsweise bis an den Rand der Trägerplatte. Besonders bevorzugt ist es jedoch, wenn im Bereich der Knicklinie ein Loch in der Trägerplatte vorgesehen wird, bis zu dem der Schlitz in der Zwischenlage reicht. Dieses Loch bildet dann nach dem Zusammenklappen der Trägerplatte die Auftragsöffnung. Besonders bequem, beispielsweise für einen Patienten, der aus einem Finger einen Bluttropfen in die Auftragsöffnung einbringen möchte, ist ein Biosensor, wenn die am von der Knicklinie gebildeten Rand vorgesehene Auftragsöffnung eine bogenförmige Einbuchtung, beispielsweise mit dem Profil einer Fingerkuppe, hat. Dann muß der Patient seinen Finger nach dem zum Gewinnen eines Bluttropfens üblichen Stechen mit einer Nadel lediglich in die Einbuchtung am Rand des Biosensors legen.

[0014] Beim Aufbringen eines solchen Bluttropfens von einer Fingerbeere in eine Auftragsöffnung stellt es sich für den Patienten regelmäßig als problematisch dar, zu wissen, ob er seinen Bluttropfen auch in die Auftragsöffnung hineingebracht hat. Dieses Problem stellt sich dem Patienten nicht mehr, wenn gemäß einer be-

vorzugten Weiterbildung des erfindungsgemäßen Biosensors die Einbuchtung am Rand des Biosensors im Unterteil bezogen auf die Deckfläche des Biosensors eine senkrecht liegende und im Oberteil bezogen auf die Deckfläche eine vorspringende, insbesondere eine schräg liegende Randfläche hat. Besonders bevorzugt ist es dabei, daß die schräg liegende Randfläche mit ihrer stumpfen Kante mit der senkrechten Randfläche der Einbuchtung im Unterteil weitgehend fluchtet. Eine derart gestaltete vorstehende Schrägläche wirkt quasi als Verdrehsicierung.

Bei der Bauweise mit der Trägerplatte kann man das Loch dann ganz bewußt asymmetrisch gestalten, so daß der im Unterteil liegende Rand des Loches nach dem Zusammenklappen nicht genau über dem Oberteil in dem Rand des Loches zu liegen kommt.

[0015] Mit dieser Verdrehsicierung muß ein Patient den Finger dann nicht mehr auf eine schmale senkrecht zum flachen Biosensor liegenden Randfläche auflegen, sondern kann aufgrund des vorstehenden, insbesondere schrägen Randes der Einbuchtung am Oberteil mitverfolgen, ob er mit dem Bluttropfen auch die Eintrittsöffnung in den Kapillarkanal trifft. Diese Verdrehsicierung ist besonders wirksam, wenn die schräg verlaufende Fläche unter einem Winkel von etwa 30 bis 40° zur Deckfläche verläuft.

[0016] Dieses Konzept ist insbesondere vor dem Hintergrund von großem Vorteil, daß auch ältere Patienten solche Biosensoren verwenden.

[0017] Die Ausbildung des Kapillarkanals kann durch die Formung des Schlitzes nahezu beliebig gestaltet werden, so lange dafür Sorge getragen ist, daß eine Kapillarwirkung besteht, d. h. daß an der Aufnahmeöffnung eingebrachte Körperflüssigkeit auch durch Kapillarkräfte entlang des Kapillarkanals transportiert wird. In einer Weiterbildung der Erfindung wird durch die Gestaltung des Kapillarkanals als Schrägkapillarkanal die Transportgeschwindigkeit der Körperflüssigkeit im Kanal gesteuert. Gestaltet man den Kapillarkanal aufweitend, d. h. nimmt die Breite des Schlitzes in der Zwischenlage und damit die Breite des Kapillarkanals von der Auftragsöffnung weg gesehen zu, so wird die Körperflüssigkeit von der Auftragsöffnung schnell weggefördert.

Gestaltet man die Breite des Schlitzes und mithin den Querschnitt des Kapillarkanals abnehmend, erfolgt ein langsames Absaugen. Somit kann man die Ansprechgeschwindigkeit des Biosensors anwendungsgemäß gestalten.

[0018] Die Zwischenlage hat die Funktion zusammen mit dem Ober- und dem Unterteil den Kapillarkanal zu bilden. Sie ist deshalb wie das Material für Ober- und Unterteil gegenüber der zu analysierenden Körperflüssigkeit inert und so beschaffen, daß sie nicht zu Meßfehlern führt. Weiter schädigt sie die verwendeten Enzyme nicht.

[0019] Besonders bevorzugt ist aus Fertigungsgründen eine zweilagige Zwischenlage, die aus einer auf das Unterteil aufgebrachten Lackschicht von geeigneter Dicke besteht, die über eine Klebermasse mit dem Ober-

teil verklebt ist. Die Klebemasse ist so beschaffen, daß ihr Aushärtevorgang die Enzyme nicht schädigt. Dies kann insbesondere durch feuchtigkeitsabbindende oder druckaktivierbare Klebstoffe erreicht werden.

[0020] Die Kommunikation mit dem den Biosensor anwendenden Patienten ist wichtig. In einer Weiterbildung des Biosensors befindet sich deshalb an beiden Rändern des den überstehenden Abschnitts aufweisenden Ober- oder Unterteils ein Lichtleitelement, das nach Einsticken in das Auswertegerät beleuchtet werden kann. Beispielsweise leuchtet je nach Einstrahlung durch das Auswertegerät dieses Lichtleitelements in einer bestimmten Farbe, z. B. in rot oder in grün. Dieses Lichtleitelement kann durch eine Druckprägung des Randes des Ober- und/oder Unterteils erreicht werden, so daß sich ein das Licht leitender Strahlungskanal als Form einer Leitlinie am Sensorrand ergibt. Im Auswertegerät befindet sich dann eine rote bzw. eine grüne Leuchtquelle, beispielsweise eine LED. Je nach von ihr eingestrahltem Licht, weiß der Patient nun, was zu tun ist.

[0021] Für die enzymhaltige Substanz sind prinzipiell alle Enzyme tauglich, die eine elektrochemische Messung ermöglichen. Besonders bevorzugt ist es, das Enzym aus folgender Gruppe auszuwählen: Lactatoxidase, Glucoseoxidase, Cholesterase, Uricase, Xanthinoxidase, Peroxidase, Urease, Aminotransferase, Cholesterinoxidase, Aminooxidase, Glutamatoxidase, Kreatininoxidase, Kreatininaminohydrolase und Dehydrogenasen. Natürlich kann man bei einzelnen Elektrodenpaaren unterschiedliche enzymhaltige Substanzen verwenden. Damit kann der Biosensor an einer Körperflüssigkeitsprobe mehrere verschiedene Substanzen messen. Natürlich ist es auch möglich, ein Elektrodenpaar als Referenzelektrodenpaar zu verwenden, um einen Nullwert zu gewinnen, wie es nach dem Stand der Technik bekannt ist.

[0022] Die Herstellung des erfindungsgemäßen Biosensors erfolgt durch:

- a) Herstellen einer Trägerplatte, die zwei Teile aufweist, welche um eine Knicklinie zusammenklappbar sind, wobei das eine Teil der Trägerplatte ein Oberteil und das andere Teil ein Unterteil des Biosensors darstellt,
- b) Bilden eines Durchtrittsloches in der Trägerplatte,
- c) Aufbringen einer Leiterstruktur aufweisend Elektroden, die durch Leiterbahnen mit Kontakten auf dem Ober- oder dem Unterteil verbunden sind, wobei zwei Elektroden auf dem Oberteil und zwei Elektroden auf dem Unterteil sitzen, und
- d) Aufbringen einer Zwischenlage auf das Ober- oder das Unterteil, wobei in der Zwischenlage ein Schlitz vorgesehen wird, der zum Loch läuft und über den Elektroden des Ober- oder Unterteils liegt.

[0023] Dieses Verfahren ermöglicht es, die Leiter-

struktur und die Zwischenlage mit Siebdrukverfahren herzustellen. Siebdrukverfahren sind zum einen sehr kostengünstig, zum anderen erlauben sie eine sehr exakte Positionierung der Elektroden bzw. der Strukturen der Zwischenlage. Bei der Sensorvariante, die entlang der Knicklinie zusammengeklappt wird, ist durch den Klappvorgang zugleich eine exakte Passung der gegenüberliegenden Elektrodenpaare sichergestellt.

[0024] Bei Biosensoren stellt sich regelmäßig das Problem, daß die enzymhaltigen Substanzen nach der Zubereitung nur relativ kurz gelagert werden dürfen. Darüber hinaus sind oft spezielle Lagerbedingungen, z. B. niedrige Temperatur, einzuhalten. Das erfindungsähnliche Herstellverfahren ermöglicht es, die Herstellung des Biosensors nach dem Aufbringen der Zwischenlage zu unterbrechen. Wählt man als Zwischenlage eine Klebschicht, kann diese mit einem Schutzblatt abgedeckt werden. Bis dahin kann der Biosensor in sehr großen Stückzahlen gefertigt und beliebig lange gelagert werden. Um dann die für den Verbrauch in nächster Zukunft vorgesehene Menge an Biosensoren fertigzustellen, muß man nur noch das Schutzblatt abziehen und die enzymhaltige Substanz aufbringen. Verwendet man die Bauform mit zweilagiger Zwischenlage, so kann bei Einsatz eines druckaktivierbaren Klebers auf das Schutzblatt sogar verzichtet werden. Nach dem Zusammenklappen ist der Biosensor dann gebrauchsfertig.

[0025] Die Herstellung eines Biosensors mit im Bereich der Knicklinie liegender Aufnahmöffnung kann besonders bevorzugt dadurch erfolgen, daß im Bereich der Knicklinie ein vorzugsweise linsenförmiges Loch gestanzt wird. Dieses Loch sollte so geformt werden, daß der im Unterteil liegende Rand des Loches nach dem Zusammenklappen über dem im Oberteil liegenden Rand des Loches zu liegen kommt. Es muß also weitgehend symmetrisch sein. Natürlich muß der Schlitz in der Zwischenlage bis zum Loch hin verlaufend ausgebildet werden.

[0026] Bei der Stanzung dieses Loches kann die oben erwähnte Ausbildung der Randflächen erfolgen, d. h. die Randfläche des Loches, die im Unterteil liegt, wird senkrecht zur Deckfläche verlaufen und die Randfläche, die im Oberteil liegt, wird schräg verlaufend zur Deckfläche ausgebildet.

[0027] Alternativ befindet sich die Auftragsöffnung des Kapillarkanals in einem gestuften Rand. Dann ist das Loch etwas asymmetrisch zu stanzen. Diese Ausführungsform erleichtert dem Patienten ebenfalls den Auftrag eines Bluttropfens. Sie ist einfacher herzustellen, als die mit der schräg verlaufenden Randfläche des Unterteils, bietet aber ähnliche Gebrauchsvoorteile.

[0028] Der so hergestellte Biosensor ist insbesondere geeignet zur Bestimmung von Blutwerten, insbesondere Blutzucker, Harnstoff, Lactat, Cholesterin, Vitaminen, Troponin und Myoglobin.

[0029] Vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

[0030] Die Erfindung wird nachfolgend unter Bezug-

nahme auf die Zeichnungen, deren Offenbarungsgehalt sämtlich erfindungswesentlich ist, in Ausführungsbeispielen näher erläutert. In der Zeichnung zeigt:

- Fig. 1 eine Explosionsdarstellung eines Biosensors,
- Fig. 2 eine Darstellung einer Trägerplatte eines Biosensors vor dem Zusammenklappen,
- Fig. 3 eine Trägerplatte eines Biosensors beim Zusammenklappen und
- Fig. 4 eine vergrößerte Schnittdarstellung einer Auftragsöffnung des Biosensors der Figuren 1 bis 3.

[0031] In Figur 1 ist eine Explosionsdarstellung eines Biosensors gezeigt. Dieser Biosensor ist zum Einschieben in ein Auswertegerät ausgebildet. Er weist einen entsprechenden Abschnitt 15 mit Kontakten 14 auf, die nach dem Einschieben in den Schlitz eines Auswertegerätes elektrisch kontaktiert werden. Der Biosensor besteht aus einem Oberteil 2 sowie einem Unterteil 3, die beide aus einer 10µm - 200 µm starken Kunststoff-Folie bestehen. Zwischen Oberteil 2 und Unterteil 3 befindet sich eine Zwischenlage 5, die Ober- und Unterteil verbindet. Im Oberteil 2 ist ein Luftloch 7 gebildet, dessen Funktion später noch erläutert werden wird. Das Oberteil 2 weist an seiner zur Zwischenlage 5 gelegenen Fläche zwei Elektroden 10 und 11 auf, die der besseren Erkennbarkeit halber in Figur 1 allerdings auf der von der Zwischenlage 5 wegweisenden Seite eingezeichnet sind. Das Unterteil 2 weist ähnliche Elektroden 8, 9 auf. Oberteil 2 und Unterteil 3 schließen die Zwischenlage 5 so ein, daß die Elektrode 10 genau der Elektrode 8 und die Elektrode 9 genau der Elektrode 11 gegenüberliegt.

[0032] In der Zwischenlage 5 ist ein Schlitz 6 gebildet, der über die Elektrodenpaare 9, 11 und 8, 10 bis zum Luftloch 7 hin verläuft. Der Schlitz 6 beginnt an einem Rand des Biosensors, wie später noch erläutert werden wird. Der Schlitz 6 bildet zusammen mit dem Oberteil 2 und dem Unterteil 3 einen Kapillarkanal 20, der zum Transport von zu analysierender Körperflüssigkeit dient. Er mündet in eine Auftragsöffnung 16, die an einem Rand des Biosensors liegt. Die Zwischenlage ist zweilagig aufgebaut. Sie besteht aus einer auf das Unterteil aufgebrachten Lackschicht und einer darauf befindlichen Klebeschicht, die das Oberteil fixiert.

[0033] Die Elektroden 8, 9 sind mit Kontakten 14 am Unterteil 3, die Elektroden 10 und 11 mit ebensolchen Kontakten 14 am Oberteil 2 verbunden.

[0034] Das Unterteil 3, die Zwischenlage 5 und das Oberteil 2 sind in Passung zusammengefügt, dazu ist in jedem der drei Teile eine Paßstruktur 25 vorgesehen. Beispielsweise kann es sich dabei um Nuten oder Kerben handeln, die miteinander in Deckung gebracht werden. Ist dies erfolgt, sind die Elektroden 11, 9 und 8, 10 der Elektrodenpaare genau gegenüberliegend im Kapillarkanal 20 angeordnet.

[0035] Im Bereich der Auftragsöffnung 16 ist der Rand

des Biosensors mit einer Einbuchtung 17 versehen, die einen leichten Auftrag der zu analysierenden Körperflüssigkeit, beispielsweise des Blutes aus der Fingerbeere eines Patienten ermöglicht. Die Randflächen 18 und 19 am Unterteil 3 bzw. am Oberteil 2 sind, wie in

Figur 4 dargestellt, gestaltet. Figur 4 zeigt einen Teilschnitt durch den Biosensor entlang des Kapillarkanals 20. Die Randfläche 18 der Einbuchtung 17 im Unterteil 2 verläuft senkrecht zur Deckfläche des Unterteils 3. Die Randfläche 19 der Einbuchtung 17 im Oberteil 2 verläuft dagegen schräg zur Deckfläche des Oberteils 2. Dabei liegen die Randflächen 18 und 19 so zueinander, daß die Randfläche 19 über die Kanten des Randes des Unterteils 3 vorspringt. Der Winkel, den die Randfläche 19 zur Deckfläche des Unterteils 3 einnimmt, liegt zwischen 30° und 40°. Diese schräg verlaufende Randfläche dient als Verdrehsicherung und Zentrierung, die den Patienten dabei unterstützt einen beispielsweise auf der Fingerbeere sitzenden Bluttropfen in die Auftragsöffnung 16 einzubringen. Die Randflächen 18 und 19 des Stanzloches 24 sind in Figur 4 dargestellt. Alternativ können die Ränder 18, 19 auch so gestaltet werden, daß sie zwar beide denselben Winkel zur Deckfläche einnehmen, eine Randfläche aber leicht vorspringt, wie dies in Figur 4 gestrichelt als Randfläche 19a gezeigt ist.

[0036] In Figur 2 ist eine alternative Ausbildung des Biosensors der Figur 1 dargestellt. In dieser Variante sind die in Figur 1 als getrennte Teile vorgesehenen Ober- bzw. Unterteile 2, 3 an einer Knicklinie 4 miteinander verbunden, d. h. sie sind Bestandteile einer Trägerplatte 1. Diese Trägerplatte 1 ist mit den Elektroden 8 bis 11 sowie den Kontakten 14 und entsprechenden Leiterbahnen bedruckt. Die Zwischenlage wie bei der obigen Ausbildung 5 ist wie bei der obiger Ausbildung gemäß Figur 1 ebenfalls in Drucktechnik auf dem Oberteil 2 oder dem Unterteil 3 aufgebracht. Anschließend wird die Trägerplatte 1 entlang der Knicklinie 4 zusammengeklappt. Falls erforderlich, ist dazu auf der der bedruckten Seite gegenüberliegenden Fläche der Trägerplatte 1 im Bereich der Knicklinie 4 eine entsprechende Nut vorgesehen, um auch bei einer dickeren Trägerplatte 1 ein einfaches Zusammenklappen zu gewährleisten. Wie das Zusammenklappen erfolgt, wird später noch anhand Figur 3 erläutert werden.

[0037] Der Kapillarkanal mündet nun in den Rand des Biosensors, an dem die Knicklinie 4 liegt. Die Einbuchtung 17 ist deshalb in der Trägerplatte als linsenförmiges Stanzloch 24 ausgebildet.

[0038] Der durch das Oberteil 2, das Unterteil 3 und den Schlitz 6 gebildete Kapillarkanal kann als Schrägkapillare ausgebildet werden. Dazu weitet sich der Kapillarkanal von der Auftragsöffnung 16 zum Luftloch 7 hin auf oder verjüngt sich. Dies bewirkt ein unterschiedliches Fließverhalten. Verjüngt sich der Kapillarkanal von der Auftragsöffnung 16 zum Luftloch 7 hin, so erreicht man ein langsames Fließverhalten der Körperflüssigkeit. Weitet sich der Kapillarkanal 20 von der Auftragsöffnung 16 zum Luftloch 7 hin auf, erhält man ein

schnelleres Fließverhalten.

[0039] Das Luftloch 7 ist wesentlich, da nur dann die Kapillarkräfte ein ausreichend schnelles Einsaugen einer Körperflüssigkeit in den Kapillarkanal 20 bewirken.

[0040] Auf jeweils einer Elektrode 8 oder 11 sowie 9 oder 10 der Elektrodenpaare 8, 11 und 9, 10 ist eine enzymhaltige Substanz aufgebracht. Dabei kann eines der folgenden Enzyme verwendet werden: Lactatoxidase, Glucoseoxidase, Cholesterase, Uricase, Xanthinoxidase, Peroxidase, Urease, Aminotransferase, Cholesterinoxidase, Aminooxidasen, Glutamatoxidase, Kreatininoxidase, Kreatininaminohydrolase und Dehydrogenasen.

[0041] Auf das Funktionsprinzip der Messung wird später noch eingegangen werden.

[0042] Der Sensor der Figur 2 wird nun folgendermaßen hergestellt. Zuerst wird die Trägerplatte 1 hergestellt, beispielsweise indem sie aus einer größeren Platte ausgestanzt wird. Als Material für die Trägerplatte kommen geeignete inerte Kunststoffe, insbesondere als Folienmaterial, in Frage.

[0043] Anschließend werden das Luftloch 7 sowie das Stanzloch 24 gestanzt. Für das Stanzloch 24 wird ein spezielles Stanzverfahren eingesetzt, um sowohl die gerade Randfläche 18 als auch die schräg verlaufende Randfläche 19 in einem Schritt stanzen zu können. Dazu wird ein zweistufiges Messer verwendet, das zuerst mit einem ersten Messerabschnitt das Stanzloch 24 mit geraden Randflächen ausstanzt und anschließend mit einem zweiten Messerabschnitt die schräge Randfläche 19 im Unterteil 2 schafft. Sollte die vereinfachte Form der Verdreh sicherung mit geraden nicht genau fluchtenden Kanten hergestellt werden, muß das Stanzloch 24 asymmetrisch, z. B. leicht verschoben zur Knicklinie 4 liegend gestanzt werden, so daß die Randfläche 19a leicht gegenüber der Randfläche 18 bezogen auf die Symmetrie zur Knicklinie 4 versetzt ist. Auf das spezielle ein zweistufiges Messer verwendende Stanzverfahren kann dann verzichtet werden.

[0044] Nach dem Stanzvorgang wird mit einem per se bekannten Siebdruckverfahren eine Leiterstruktur aufgebracht, die aus den Elektroden 8 bis 11, den Kontakten 14 sowie entsprechenden Verbindungsleitungen besteht. Als Material für die Leitungsstruktur bietet sich aufgrund seiner guten Kontakt eigenschaften Gold an, es kommen aber auch Graphit, Kupfer, Aluminium, Silber, Platin usw. in Frage.

[0045] Das Unterteil 3 hat dabei einen Abschnitt 15 auf dem die Kontakte 14 zu liegen kommen. Dieser Abschnitt 15 ist zum Einsticken in ein Auswertegerät ausgebildet.

[0046] Mit einem Rändelverfahren wird anschließend am Abschnitt 15 oder daran anschließend eine Druckprägung an den Rändern der Trägerplatte 1 eingearbeitet, die später als Lichtleitelemente 21 bzw. 22 dient. Wird bei eingestecktem Biosensor vom Auswertegerät Licht in diese Lichtleitelemente 21 oder 22 eingestrahlt, leuchten sie in der Farbe des eingestrahlten Lichtes.

Dies dient als Hinweis signal für den Patienten.

[0047] Nach dem Aufbringen der Leiterstruktur wird auf dem Unterteil 2 die Zwischenschicht 5 mit einem Siebdruckverfahren aufgebracht. Zuerst wird eine Lack schicht in geeigneter Struktur aufgebracht. Dieser Lack ist 2-5 mm dick und läßt den Bereich des Schlitzes 20 sowie die Elektroden 8 und 9 frei. Er dient als Abstands halter und haftet direkt auf dem Unterteil 3. Auf den Lack wird eine dünne Klebstoffschicht aufgebracht. Dabei handelt es sich um einen speziellen Klebstoff, der das später noch aufzubringende Enzym nicht schädigt. Die Klebemasse wird beim Druck ebenfalls so strukturiert, daß vom Luftloch 7 zum Stanzloch 24 hin der Schlitz 6 frei bleibt. Man kann die durch die Klebemasse gebilde te Zwischenlage 5 auch auf das Oberteil 2 aufbringen.

[0048] In dieser Stufe des Verfahrens ist es möglich, den Herstellvorgang nahe zu beliebig lang zu unterbrechen. Man muß lediglich die Klebemasse der Zwischenlage 5 mit einer Schutzfolie abdecken. Dies hat den Vor teil, daß der nachfolgende Schritt, bei dem eine evtl. ver derbliche, enzymhaltige Substanz aufgebracht wird, relativ kurz vor dem Endvertrieb des fertigen Sensors erfolgen kann. Die bis dahin vorbereitete Trägerplatte 1 kann so in großen Stückzahlen vorproduziert werden.

[0049] Zur Fertigstellung des Biosensors wird, gegebenenfalls nach Abziehen der Schutzfolie, auf die Elektroden 8, 9 des Unterteils 3 oder die Elektroden 10, 11 des Oberteils 2 eine pastöse enzymhaltige Substanz aufgebracht. Dabei ist der Viskositätsgrad dieser Sub stanz so eingestellt, daß die Substanz nicht zwischen den Elektroden verläuft und sich nicht mischt. Durch diese Einstellung des Viskositätsgrades ist es möglich, unterschiedlich zubereitete Pasten auf die zwei Elektroden aufzubringen. Die Pasten haben nach dem Auftrag eine Dicke von 2 bis 11 µm.

[0050] Dann wird die Trägerplatte 1 entlang der Knicklinie 4 zusammengeklappt, wobei die als Zwischenlage 5 dienende Klebemasse das Unterteil 2 mit dem Oberteil 3 verklebt. Dieser Zusammenklappvor gang ist durch den Pfeil 23 der Figur 3 symbolisiert, in der allerdings der besseren Erkennbarkeit halber die Zwischenlage 5 nicht mit eingezeichnet ist. Der Biosensor ist dann gebrauchsfertig.

[0051] Die Verwendung des Biosensors erfolgt nun folgendermaßen.

[0052] Zuerst wird der Biosensor in ein Auswertegerät eingesteckt, das die Kontakte 14 elektronisch anschließt und somit eine Verbindung zu den Elektroden 8 bis 11 herstellt.

[0053] Dann muß sich der Patient zur Gewinnung eines Bluttropfens in die Fingerbeere stechen, wenn beispielsweise der Blutzuckerwert bestimmt werden soll. Anschließend legt der Patient den Finger mit dem Bluttropfen in die Einbuchtung 17. Dabei kommt ihm die Zentrierfunktion durch die Randflächengestaltung an der Auftragsöffnung 16 zugute: Er muß den Finger nicht schräg auf die Einbuchtung 17 hinführen sondern die Randfläche, beispielsweise die schräge Randfläche 19

führt den Finger automatisch auf die Auftragsöffnung 16.

[0054] Durch die Kapillarkräfte, die je nach Ausgestaltung des Kapillarkanals 20 als Schrägkapillarkanal unterschiedlich stark sind, wird der Bluttropfen durch den Kapillarkanal 20 über die Elektrodenpaare 11, 12 und 10, 8 gezogen.

[0055] Zwischen jedem Elektrodenpaar läuft dann folgender Prozeß ab.

[0056] In der jeweils auf eine Elektrode des Elektrodenpaares aufgebrachten Paste befindet sich ein substanz-spezifisches Enzym, so daß eine Redox-Reaktion stattfindet, bei der Elektronen von der zu bestimmenden Substanz, beispielsweise Glucose, auf das Enzym unter Umwandlung der zu bestimmenden Substanz in einen Metaboliten übertragen wird. Anschließend werden die Elektroden vom in der Substanz befindlichen Enzym auf eine Elektrode übertragen, gegebenenfalls kann das durch einen bekannten Mediator, z. B. Ferrocen erleichtert werden.

[0057] Der so erzeugte Strom wird gemessen. Alternativ zur elektrochemischen Messung kann man auch die Leitfähigkeit erfassen.

[0058] Die elektrochemische Änderung wird nun über einen bestimmten Zeitraum kontinuierlich verfolgt. Daraus ergibt sich eine Kurve, die hinsichtlich verschiedener Kenngrößen ausgewertet werden kann, beispielsweise auf ihre Steigung, die absolute Höhe usw. Dies ist dem Fachmann bekannt.

[0059] Je nach Resultat des Meßergebnisses zeigt das Auswertegerät dann den Anteil der zu bestimmenden Substanz im Blut an. Dabei kann eine qualitative Anzeige der nachzuweisenden Substanz erfolgen, z. B. im Sinne einer ja/nein-Aussage, ob ein Schwellwert überschritten ist; es ist aber auch eine quantitative Bestimmung, z. B. durch Angabe einer Konzentration möglich. Weiter ist es möglich, bei Überschreitung eines einzustellenden Grenzwertes einen zusätzlichen Hinweis zu geben oder das Meßergebnis auf Plausibilität zu überprüfen.

[0060] Der Biosensor erlaubt es nun, aufgrund der mindestens zwei Elektrodenpaare aus einer einzigen Körperflüssigkeitsprobe mehrere Meßwerte zu gewinnen. Dazu sind jeweils unterschiedlich zubereitete Pasten mit unterschiedlichen Enzymen an den Elektrodenpaaren vorzusehen. Alternativ ist es möglich, ein Elektrodenpaar für eine Referenzmessung zu verwenden. Die Verhältnisse der Referenzmessung entsprechen der oben erwähnten Blutzuckermessung mit dem Unterschied, daß die verwendete Substanz nicht enzymhaltig ist, ansonsten aber möglichst dieselben Eigenschaften aufweist. Die Referenzmessung kann dann ebenfalls mit bestimmten Grenzwerten verglichen werden, z. B. um eine Plausibilitätsüberprüfung durchzuführen. Weiter wird die Referenzmessung nach den selben Kriterien ausgewertet, wie die Messung an dem Elektrodenpaar mit enzymhaltiger Paste, wobei die Meßergebnisse der Referenzmessung als Nullwert die-

nen. Damit kann die Meßgenauigkeit gesteigert werden, wie es beispielsweise auch aus der erwähnten EP-A 0 359 831 bekannt ist.

[0061] Beim Durchführen der Messung dienen die Lichtelemente 21, 22 dazu, dem Patienten Informationen zu vermitteln. Beispielsweise kann das Lichtelement 21 im Auswertegerät an eine rote LED und das Lichteitbündel 21 an eine grüne LED angekoppelt sein. Damit kann man dem Patienten anzeigen, ob der Biosensor zu einer Messung bereit ist, nachdem er in das Auswertegerät eingesteckt wurde. Beispielsweise kann man die an die grüne LED angekoppelte Lichteitfläche 21 in dem Zeitraum erleuchten, in dem der Patient die Körperflüssigkeit in die Auftragsöffnung 16 einbringen kann. Wurde vom Auswertegerät erkannt, daß eine ausreichende Menge an Körperflüssigkeit aufgebracht wurde, kann die Beleuchtung der Lichtelemente 21, 22 entsprechend umgeschaltet werden, um den Patienten, beispielsweise durch ein rotes Licht zu signalisieren, daß eine gültige Messung erfolgte bzw. das Sensorelement nicht für die Aufnahme weiterer Körperflüssigkeiten bereit ist.

25 Patentansprüche

1. Biosensor zum Bestimmen von Substanzen in Körperflüssigkeiten, insbesondere in Blut, mit
 - einem Oberteil (2) und einem Unterteil (3), die aufeinander liegen, und
 - einer zwischen Oberteil (2) und Unterteil (3) liegenden Zwischenlage (5) in der ein Schlitz (6) gebildet ist, wobei
 - Oberteil (2), Unterteil (3) und Schlitz (6) einen Kapillarkanal (20) bilden, der von einer am Rand des Biosensors gebildeten Auftragsöffnung (16) zu einem im Ober- oder Unterteil (2, 3) gebildeten Luftloch (7) verläuft, und
 - Elektroden vorgesehen sind, die zusammen mit einer enzymhaltigen Substanz eine elektrochemische Messung der zu bestimmenden Substanzen erlauben, dadurch gekennzeichnet, daß
 - sowohl das Oberteil (2) als auch das Unterteil (3) im Bereich des Kapillarkanals (20) jeweils mindestens eine Elektrode (8, 9; 10, 11) trägt, wobei die Elektroden im Kapillarkanal (20) paarweise gegenüberliegen und auf mindestens einer Elektrode (8, 9) mindestens eines Elektrodenpaares eine enzymhaltige Substanz (12, 13) aufgebracht ist.
2. Biosensor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Ober- und Unterteil (2, 3) Teile einer Trägerplatte (1) sind, die entlang einer Knicklinie (4) zusammengeklappt ist, an der Ober- und Unterteil (2, 3) miteinander verbunden sind.

3. Biosensor nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektroden (8; 9; 10, 11) über Leiterstreifen mit Kontakten (14) verbunden sind, die am Ober- und/oder Unterteil (2, 3) an einem, vorzugsweise über das Unter- oder Oberteil (3, 2) überstehenden Abschnitt (15) liegen, der zum Einstecken in ein Auswertegerät ausgebildet ist. 5

4. Biosensor nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Auftragsöffnung (16) am von der Knicklinie (4) gebildeten Rand des Biosensors liegt. 10

5. Biosensor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Auftragsöffnung (16) als bogenförmige Einbuchtung (17) im Ober- und im Unterteil (2, 3) gestaltet ist. 15

6. Biosensor nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Einbuchtung (17) im Unterteil (3) eine bezogen auf die Deckfläche des Unterteils (3) senkrecht liegende Randfläche (18) und im Oberteil (2) eine bezogen auf die Deckfläche des Oberteils (3) geneigt liegende Randfläche (19) hat. 20

7. Biosensor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Breite des Schlitzes (6) in der Zwischenlage (5) von der Auftragsöffnung (16) weg gesehen zu- oder abnimmt, so daß der Kapillarkanal 20 als Schrägkapillarkanal ausgebildet ist. 25

8. Biosensor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß an einem Rand oder an beiden Rändern des den überstehenden Abschnitt (15) aufweisenden Ober- oder Unterteils (2, 3) ein Lichtleitement (21, 22) gebildet ist. 30

9. Biosensor nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Enzym in der enzymhaltigen Substanz von der Gruppe Lactatoxidase, Glucoseoxidase, Cholesterase, Uricase, Xanthinoxidase, Peroxidase, Urease, Aminotransferase, Cholesterinoxidase, Aminooxidase, Glutamatoxidase, Kreatininoxidase, Kreatininaminohydrolase und Dehydrogenase ausgewählt ist. 35

10. Verfahren zum Herstellen eines Biosensors gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche mit folgenden Schritten: 40

a) Herstellen einer Trägerplatte, die zwei verbundene Teile aufweist, welche um eine Knicklinie zusammenklappbar sind, wobei das eine Teil der Trägerplatte ein Oberteil und das andre Teil ein Unterteil des Biosensors darstellt,

b) Bilden eines Durchtrittsloches in der Trägerplatte,

c) Aufbringen einer Leiterstruktur aufweisend 45

Elektroden, die durch Leiterbahnen mit Kontakten auf dem Ober- oder dem Unterteil verbunden sind, wobei mindestens eine Elektrode auf dem Oberteil und ebenso viele Elektroden auf dem Unterteil sitzen, und

d) Aufbringen einer Zwischenlage auf das Ober- oder das Unterteil, wobei in der Zwischenlage ein Schlitz vorgesehen wird, der zum Loch läuft und über den Elektroden des Ober- oder Unterteils liegt. 50

11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß nach Schritt d) folgender Schritt durchgeführt wird:

e) Aufbringen einer enzymhaltigen Paste auf jeder im Schlitz liegenden Elektrode. 55

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß nach Schritt e) die Trägerplatte entlang der Knicklinie zusammengeklappt wird, so daß die Zwischenlage zwischen Oberteil und Unterteil zu liegen kommt, und daß aus dem Schlitz, dem Ober- und dem Unterteil ein Kapillarkanal gebildet wird, in dem die Elektroden auf dem Ober- und dem Unterteil paarweise gegenüberliegen.

13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Verfahrensansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß vorzugsweise vor Schritt c) in die Trägerplatte im Bereich der Knicklinie ein vorzugsweise linsenförmiges Loch gestanzt wird, daß so geformt ist, daß der im Unterteil liegende Rand des Loches beim Zusammenklappen im Bereich des im Oberteil liegenden Randes des Loches zu liegen kommt, und daß der Schlitz zum Loch hin verlaufend ausgebildet wird.

14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß bei der Stanzung des Loches der im Unterteil liegende Rand des Loches eine senkrechte Randfläche und der im Oberteil liegende Rand des Loches eine schräge Randfläche erhält und daß beim Zusammenklappen der im Unterteil liegende Rand des Loches beim Zusammenklappen auf dem im Oberteil liegenden Rand des Loches zu liegen kommt.

15. Verwendung des Biosensors nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 9 zum Bestimmen mindestens eines Blutwertes, vorzugsweise aus der Gruppe: Blutzuckerwert, Harnstoff, Lactat, Cholesterin, Vitaminen, Troponin und Myoglobin.

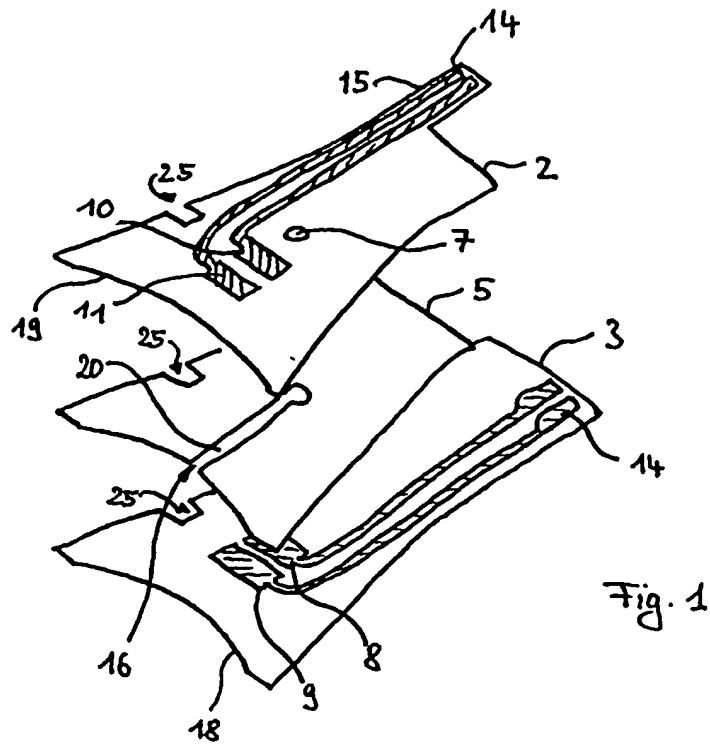


Fig. 1

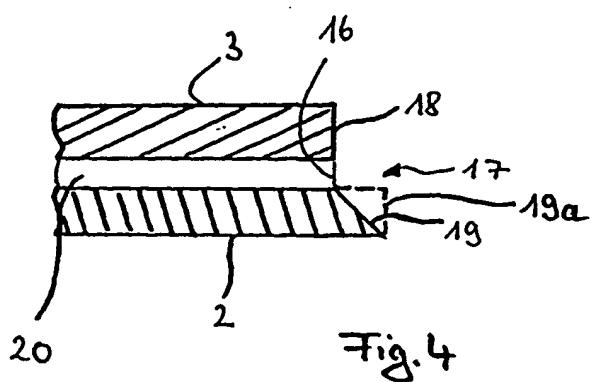


Fig. 4

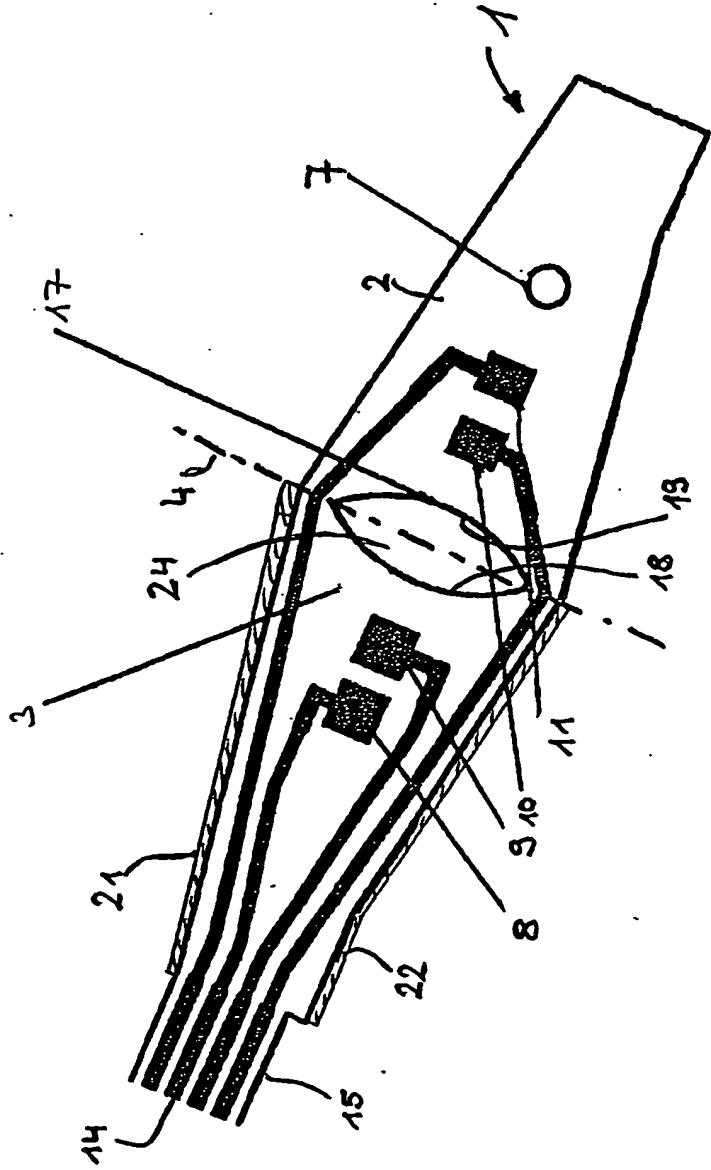


Fig 2

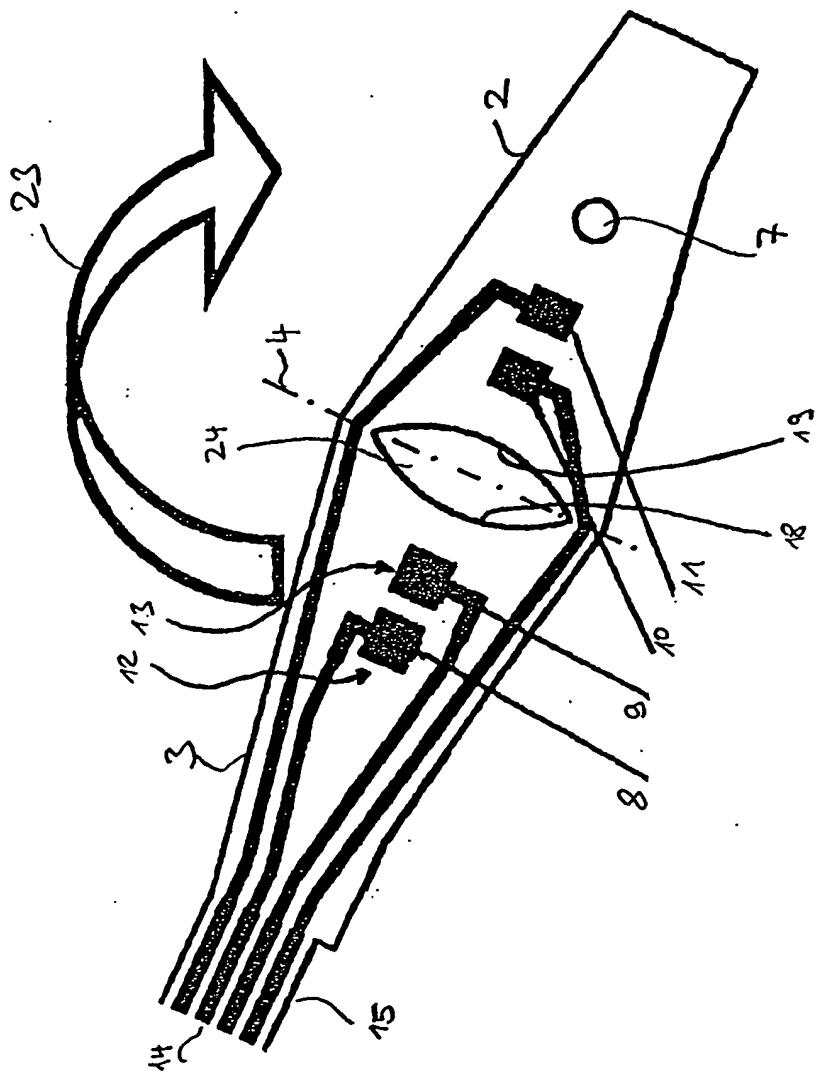


Fig 3



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung
EP 00 11 3906

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betitlt Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int.Cl.)
X	EP 0 964 059 A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 15. Dezember 1999 (1999-12-15) * Spalte 2, Zeile 33 - Spalte 3, Zeile 33 * * Spalte 5, Zeile 14 - Spalte 6, Zeile 13; Anspruch 6; Abbildungen 2,3 *	1	C12Q1/00 G01N27/30
Y	WO 95 22051 A (ABBOTT LAB) 17. August 1995 (1995-08-17) * Seite 7, Zeile 25 - Seite 9, Zeile 14 * * Seite 13, Zeile 1 - Seite 16, Zeile 3; Ansprüche; Beispiele 1,2 *	2,10	
X	WO 95 22051 A (ABBOTT LAB) 17. August 1995 (1995-08-17) * Seite 7, Zeile 25 - Seite 9, Zeile 14 * * Seite 13, Zeile 1 - Seite 16, Zeile 3; Ansprüche; Beispiele 1,2 *	1,15	
Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 2000, no. 06, 22. September 2000 (2000-09-22) -& JP 2000 065777 A (NOK CORP), 3. März 2000 (2000-03-03) * Zusammenfassung *	2,10	
D,A	EP 0 359 831 A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 28. März 1990 (1990-03-28) * das ganze Dokument *	1-15	RECHERCHIERTE SACHGEWERTE (Int.Cl.)
A	EP 0 735 363 A (MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD) 2. Oktober 1996 (1996-10-02) * Spalte 3, Zeile 25 - Zeile 58; Ansprüche; Beispiel 7 *	1-15	C12Q G01N
A	EP 0 652 436 A (GOLD STAR CO) 10. Mai 1995 (1995-05-10) * Seite 10, Zeile 22 - Zeile 54; Abbildung 10 *	2	
A	US 6 033 866 A (GOLDBERG ESFIR ET AL) 7. März 2000 (2000-03-07) * Spalte 2, Zeile 1 - Spalte 3, Zeile 9; Ansprüche *	1	
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchierer	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
MÜNCHEN	22. Januar 2001	Luzzatto, E	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE		T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur			

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 00 11 3906

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am
Diese Angaben dienen nur zur Orientierung und erfolgen ohne Gewähr.

22-01-2001

im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 0964059	A	15-12-1999	JP CN	11352093 A 1243951 A	24-12-1999 09-02-2000
WO 9522051	A	17-08-1995	AU CA EP JP US	1911795 A 2179309 A 0752099 A 9509485 T 5520787 A	29-08-1995 17-08-1995 08-01-1997 22-09-1997 28-05-1996
JP 2000065777	A	03-03-2000	KEINE		
EP 0359831	A	28-03-1990	JP JP JP JP JP JP DE DE US WO	1291153 A 1932654 C 6058338 B 2062952 A 2502666 B 1253648 A 2502665 B 68924026 D 68924026 T 5120420 A 8909397 A	22-11-1989 26-05-1995 03-08-1994 02-03-1990 29-05-1996 09-10-1989 29-05-1996 05-10-1995 21-03-1996 09-06-1992 05-10-1989
EP 0735363	A	02-10-1996	DE DE EP JP JP US JP JP	69221808 D 69221808 T 0537761 A 2960265 B 5340915 A 5264103 A 2658769 B 5196596 A	02-10-1997 02-04-1998 21-04-1993 06-10-1999 24-12-1993 23-11-1993 30-09-1997 06-08-1993
EP 0652436	A	10-05-1995	KR JP US	9710981 B 7198668 A 5571395 A	05-07-1997 01-08-1995 05-11-1996
US 6033866	A	07-03-2000	CN CN	1219676 A 2372689 U	16-06-1999 05-04-2000

PTO 2002-5072

CY=EP DATE=20020102 KIND=A1
PN=1167538

BIOSENSOR AND PROCESS FOR MANUFACTURE THEREOF
[Biosensor und Herstellverfahren dafür]

P. Schibli

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Washington, D.C. October 2002

Translated by: FLS, Inc.

PUBLICATION COUNTRY (10) : EP

DOCUMENT NUMBER (11) : 1167538

DOCUMENT KIND (12) : A1
(13) : APPLICATION

PUBLICATION DATE (43) : 20020102

PUBLICATION DATE (45) :

APPLICATION NUMBER (21) : 00113906.2

APPLICATION DATE (22) : 20000630

ADDITION TO (61) :

INTERNATIONAL CLASSIFICATION (51) : C 12 Q 1/00

DOMESTIC CLASSIFICATION (52) :

PRIORITY COUNTRY (33) :

PRIORITY NUMBER (31) :

PRIORITY DATE (32) :

INVENTOR (72) : Schibli, P.

APPLICANT (71) : Schibli Engineering GmbH

TITLE (54) : BIOSENSOR AND PROCESS FOR
MANUFACTURE THEREOF

FOREIGN TITLE [54A] : Biosensor und Herstellverfahren
dafür

This invention relates to a biosensor for determining substances in body fluids and a process for manufacturing such a biosensor.

Determining substances in body fluids by means of biosensors is known. For example, glucose in urine or in blood can be determined using the enzyme glucose oxidase (c.f. Carlson, "Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler" [Brief Textbook on Biochemistry for Physicians and Scientists], 11th edition, p. 189). To implement this method, the glucose in a drop of blood is oxidized by glucose oxidase to form gluconolactone. The electrons that are released in the process reduce the enzyme glucose oxidase which, in turn, transfers electrons to a mediator, such as ferrocene, while the enzyme is oxidized. The electrons can be transferred to an electrode from the mediator, so that a microcurrent flows if a voltage is applied. This current can be used as a measure of the glucose content in the blood sample. This enzymatic reaction is detected electrochemically in a biosensor, since after a voltage is applied a current between two electrodes can be measured. Biosensors operating by this principle are known, for example, from US-PS 5 264 130, US-PS 5 264 106, or EP-A 0 359 831.

The latter publication, which was used as a basis for the

Numbers in the margin indicate pagination in the foreign text.

precharacterizing part of Claim 1, shows a biosensor made of a two-part carrier plate, where one part comprises the upper part and the other part the lower part and between the upper and lower parts an intermediate layer is provided in which there is a slit. This slit ends at one end in an air vent and at the other end in an opening at the edge of the biosensor, where body fluids are introduced. On the lower part near the slit there is an electrode arrangement and an enzyme-containing substance that can be used for the above-mentioned electrochemical measurement of substances.

The object of this invention is to improve a biosensor of the generic type mentioned and to present a process for manufacturing such a biosensor.

Using a biosensor for determining substances in body fluids, having a two-part carrier plate where one part of the carrier plate comprises an upper part and the other part a lower part and an intermediate layer between the upper part and the lower part in which a slit is formed, whereby upper part, lower part, and slit form a capillary channel that extends from an application port at the edge of the sensor to an air vent in the upper or lower part, and electrodes are provided which, together with an enzyme containing substance, can be used for electrochemical measurement of substances present in body fluids, the object is achieved in accordance with the present invention in that in the region of the capillary channel the upper part and the lower part each have at least one electrode, whereby the electrodes are opposite each other

in pairs and are arranged such that each electrode pair forms a measurement region and an enzyme-containing substance is applied to at least one electrode of at least one electrode pair.

Essential to the concept of this invention is the fact that the electrodes do not lie exclusively on the lower part of a multipart sensor. Instead, the surface available on the upper part is also equipped with electrodes, so that the electrodes form opposing pairs.

This biosensor has the advantage that, with the opposing pairs of electrodes, the effective electrode surface is much greater than that found in the prior art. This increases the useful signal during an electrochemical measurement, which is directly dependent on the surface area of the electrodes. This clearly improves the signal/noise ratio, thereby lowering the detection limits of the substances that can be achieved with the biosensor. The improved signal/noise ratio makes it possible to perform analyses with a smaller quantity of body fluids. For example, the minimum amount of blood required for a blood-sugar measurement is much lower, which is more pleasant for the patient, since it is less painful to take a drop of blood.

An additional advantage of placing the electrodes in opposing pairs is that practically any desired number of successive electrode pairs can be provided in the capillary channel. This makes it possible to detect not just one, but several substances simultaneously in a body fluid sample.

Since the electrodes are arranged in opposing pairs, there is the additional advantage that the body fluid to be examined flows precisely between all electrode pairs and does not move to successive electrode pairs arranged one after the other. Thus, the current received by the electrodes flows transverse to the direction of body-fluid flow which is advantageous from the standpoint of measurement accuracy, since the measurement signal surges more when the body fluid enters the space between each electrode pair than when the fluid flows across electrodes placed one after the other. Thus, the minimum quantity of body fluid required for an analysis is further reduced.

Particular manufacturing advantages are gained by using a carrier plate that is folded together along a fold line, i.e., if the upper and lower parts are part of a one-piece carrier plate. This makes it easier to apply and connect contacts to the electrodes, since this can be done before folding in one work step and on one surface of a component. Moreover, folding the carrier plate together along a fold line separating the upper and lower parts produces a particularly good match between the opposing electrode pairs, so that matching and adjustment structures are not needed. It is also easier to apply the enzyme-containing substance to the carrier plate before folding. This concept also makes it possible to make the intermediate layer with the slit relatively easily, for example using a silk-screen process.

In this enhancement of the invention, since the electrodes can

be applied to the carrier plate in one step, all electrodes can be contacted with contacts that lie either on the upper or on the lower parts. For this purpose, a section of the upper or lower part is preferably provided that projects out in the folded state and holds the contacts for plugging in an analysis device, making an electrical connection with the electrodes.

Possible materials for the upper and lower parts and the carrier plate include any substance, first of all, that is sufficiently inert with respect to the body fluid to be tested and the enzyme pastes in order to avoid cross-sensitivities and measurement errors and, secondly, that makes possible a capillary effect in the capillary channel, due to its wetting capacity. Particularly preferred are thin foils, where kapton or polyester is advantageous from a cost standpoint. For rigidity, a stabilizing sublayer can be provided under the foil. In this way, especially thin foils may be selected.

In principle, the application port that is used to apply the body fluid to be analyzed can be anywhere. It must simply reach an edge of the biosensor, for example the edge of the carrier plate. It is particularly preferably, however, if a hole is provided in the carrier plate in the region of the fold line, to which the slit in the intermediate layer extends. After folding the carrier plate, then, this hole forms the application port. A biosensor is particularly convenient for a patient who must transfer a drop of blood from his finger to the application port, for example, if the

application port on the edge formed by the fold line has an arched indentation, in the form of a finger tip, for example. In this case, after his finger is pricked with a needle in the usual way, the patient need simply place that finger in the indentation at the edge of the biosensor.

When the patient places such a blood drop from a finger pad only an application port, it is always difficult for him to know if his blood drop has reached the application port. This is no longer a problem for the patient if, in accordance with a preferred enhancement of the biosensor made in accordance with this invention, the indentation at the edge of the biosensor has an edge surface that is vertical with respect to the deck surface of the biosensor in the lower part and projecting, in particular oblique, with respect to the deck surface in the upper part. It is particularly preferable if the dull edge of the oblique edge surface is essentially aligned with the vertical edge surface of the indentation. Such a protruding oblique surface serves as a quasi-protection against twisting. Using the design with the carrier plate, the hole can intentionally be made asymmetric so that, after folding, the edge of the hole in the lower part does not lie exactly over upper part in the edge of the hole.

With this twist protection, it is no longer necessary for a patient to place his finger on a narrow edge surface that is perpendicular to the flat biosensor but, because of the projecting, in particular oblique, edge of the indentation on the upper part,

he can see if the blood drop has entered the application port in the capillary channel. This twist protection is particularly effective if the oblique surface runs at an angle of approximately 30 to 40° to the deck surface.

This concept is of particularly great advantage considering that older patients use these biosensors, as well.

By the formation of the slit, the capillary channel can be given almost any desired shape, as long as care is taken to give it a capillary effect, i.e., a body fluid applied to the application port will be transported by the capillary forces of the capillary channel. In an enhancement of the invention, the transport speed of the body fluid in the channel is controlled by the design of the capillary channel as an oblique capillary channel. If the capillary channel is made to expand, i.e., if the width of the slit in the intermediate layer and, thus, the width of the capillary channel increases, as seen from the application port, then the body fluid will be transported away from the application port quickly. If the width of the slit and, thus, the cross section of the capillary channel decreases, then it will be suctioned off slowly. In this way, the response rate of the biosensor can be matched to the application.

Along with the upper part and the lower part, the intermediate layer serves to form the capillary channel. Consequently, like the material for the upper and lower parts, it is inert to the body fluid that is to be analyzed and made in such a way that it does

not cause measurement errors. Moreover, it does not harm the enzyme that is used.

For easier manufacturing, a two-layered intermediate layer is preferred that is made of a lacquer layer of a suitable thickness applied to the lower part, this layer being bonded to the upper part by an adhesive. The adhesive is made in such a way that its hardening process does not harm the enzyme. This can be achieved, in particular, by using moisture-hardening or pressure-activated adhesives. /4

Communication with the patient using the biosensor is important. Thus, in a further enhancement of the biosensor on both edges of the upper or lower part with the projecting section there is a light-guide element that can be illuminated after insertion into the analysis device. For example, the light-guide element can light in red or green, depending on the radiation of this light-guide element through the analysis device. This light-guide element can be made by stamping the edge of the upper and/or lower part, so that a radiation channel that guides the light is formed as a guide on the edge of the sensor. The analysis device then has a red or green light source such as an LED. The patient now knows what to do, based on the color of the light.

With regard to the enzymatic substance, basically all enzymes are suitable that can be used for electrochemical measurement. It is particularly preferable to select the enzyme from the following group: lactate oxidase, glucose oxidase, cholesterase, uricase,

xanthine oxidase, peroxidase, urease, aminotransferase, cholesterol oxidase, amino oxidase, glutamate oxidase, creatinine oxidase, creatinine aminohydrolase, and dehydrogenases. Of course, with individual electrode pairs various enzyme-containing substances can be used. Thus, the biosensor can measure several different substances in a body fluid sample. It is also possible, of course, to use an electrode pair as a reference electrode pair to obtain a zero value, as is known in the prior art. The biosensor made in accordance with this invention is produced by:

- a) producing a carrier plate with two parts that can be folded together about a fold line, where one part of the carrier plate forms an upper part and the other part a lower part of the biosensor;
- b) forming a passage hole in the carrier plate;
- c) applying a conductive structure with electrodes that are connected by conductive traces to contacts on the upper and lower parts, two electrodes being on the upper part and two electrodes on the lower part; and
- d) applying an intermediate layer to the upper or lower part, whereby a slit is provided in the intermediate layer that extends to the hole and above which the electrodes of the upper and lower parts lie.

This process makes it possible to produce the conductive structure and the intermediate layer by silk-screen processes.

First of all, silk-screen processes are very cost-effective and, secondly, they permit very exact positioning of the electrodes and intermediate-layer structures. In the sensor version that is folded along the fold line, the folding process assures an exact match-up of the opposing electrode pairs.

The problem often arises with biosensors that the enzyme-containing substances can be stored only a relative short time after preparation. Moreover, special storage conditions, such as low temperatures, must also be maintained. The production process in accordance with this invention makes it possible to interrupt production of the biosensor after application of the intermediate layer. If an adhesive layer is chosen as the intermediate layer, it can be covered with a protective sheet. The biosensor can be made in very large batches up to this point and stored for any desired period of time. In order then to complete the quantity of biosensors required in the immediate future, it is necessary only to remove the protective sheet and apply the enzyme-containing substance. If the design with a two-layered intermediate layer is used, then it is not even necessary to have the protective sheet if a pressure-activated adhesive is used. After the biosensor is folded together, it is ready for use.

Production of a biosensor with an application port in the region of the fold line is particularly advantageous if a preferably lens-shaped hole is punched in the region of the fold line. This hole should be made in such a way that, after folding,

the edge of the hole in the lower part lies over the edge of the hole in the upper part. Thus, it must be substantially symmetrical. Of course, the slit in the intermediate layer must be made to run all the way to the hole.

When this hole is punched, it is possible to use the above-mentioned design, i.e., the edge surface of the hole in the lower part is perpendicular to the deck surface and the edge surface in the upper part is oblique to the deck surface.

Alternatively, the application port of the capillary channel is located in a stepped edge. In this case, the hole is punched somewhat asymmetrically. This design makes it easier for the patient to apply a blood drop. It is easier to manufacture than the one with the oblique edge surface on the lower part, but offers similar advantages during usage.

The biosensor produced in this way is particularly suitable for determining blood values, particularly blood sugar, urea, lactate, cholesterol, vitamins, troponin, and myoglobin.

Advantageous enhancements of the invention are the subject matter of the dependent claims.

The invention will be described in greater detail below in exemplary embodiments with reference to the drawings, whose disclosed content is all essential to the invention. The drawing shows:

Figure 1: an exploded view of a biosensor;

Figure 2: representation of a carrier plate of a biosensor before being folded together;

Figure 3: a carrier plate of a biosensor during folding; and

Figure 4: an enlarged cross-sectional view of an application port of the biosensor in Figs. 1 through 3.

Figure 1 shows an exploded view of a biosensor . This biosensor is made to be inserted into an analysis device. It has a corresponding section **15** with contacts **14** which make electrical contact when an analysis device is inserted into the slit. The biosensor comprises an upper part **2** and a lower part **3**, both of which are made of 10 μm to 200 μm thick plastic foil. Between upper part **2** and lower part **3** there is an intermediate layer **5** which connects the upper part and the lower part. In upper part **2** there is an air hole **7** whose function will be described below. On the surface facing intermediate layer **5**, upper part **2** has two electrodes **10** and **11** which, for the sake of clarity however, are shown in figure 1 on the side opposite intermediate layer **5**. Lower part **2** has similar electrodes **8** and **9**. Upper part **2** and lower part **3** enclose intermediate layer **5** in such a way that electrode **10** lies precisely opposite electrode **8** and electrode **9** lies precisely opposite electrode **11**.

Intermediate layer **5** has a slit **6** extending past electrode pairs **9**, **11** and **8**, **10** to air hole **7**. Slit **6** begins at one edge of the biosensor, as will be explained below. Together with upper

part 2 and lower part 3, slit 6 forms a capillary channel 20 which serves to transport the body fluid that is to be analyzed. It opens into an application port 16 which lies on one edge of the biosensor. The intermediate layer is made in two layers. It comprises a lacquer layer on the lower part and an adhesive layer that is applied to the upper part.

Electrodes 8 and 9 have contacts 14 on lower part 3 and electrodes 10 and 11 have similar contacts 14 on upper part 2.

Lower part 3, intermediate layer 5, and upper part 2 fit together when joined. An alignment structure 25 is provided for this purpose in each of the three parts. This may be grooves or notches that are made to line up. If this is done, then electrodes 11, 9 and 8, 10 of the electrode pairs oppose each other precisely in capillary channel 20.

In the region of application port 16, the edge of the biosensor is provided with an indentation 17 that makes it easy for the patient to apply the body fluid that is to be analyzed, such as blood from the finger pad. Edge surfaces 18 and 19 on lower part 3 and upper part 2 are made as shown in Fig. 4. Figure 4 shows a partial section cross section of the biosensor along capillary channel 20. Edge surface 18 of indentation 17 in lower part 2 runs perpendicular to the deck surface of lower part 3. Edge surface 19 of indentation 17 in upper part 2, on the other hand, runs oblique to the deck surface of upper part 2. In this way, edge surfaces 18

and 19 are arranged with respect to each other such that edge surface 19 projects beyond the edges of lower part 3. The angle formed by edge surface 19 to the deck surface of lower part 3 is between 30° and 40°. This oblique edge serves as a twist protective and centering device that helps the patient get a blood drop on his finger pad, for example, into application port 16. Edge surfaces 18 and 19 of punched hole 24 are shown in Fig. 4. Alternatively, edges 18 and 19 can be made in such a way that they are at the same angle to the deck surface, but one edge extends slightly, as shown by the broken line 19a in Fig. 4.

Figure 2 shows an alternative design of the biosensor in Fig. 1. In this variation, the upper and lower parts 2, 3, shown as separate parts in Fig. 1, are joined along a fold line 4, i.e., they are components of a carrier plate 1. This carrier plate 1 is printed with electrodes 8 through 11 and with contacts 14 and the corresponding conductive traces. As in the design above in Fig. 1, intermediate layer 5 is applied by printing techniques to upper part 2 or lower part 3. Carrier plate 1 is then folded along fold line 4. If necessary, a suitable groove is provided for this purpose on the surface of carrier plate 1 opposite printed side, in the region of fold line 4, in order to provide simple folding even in the case of a thicker carrier plate 1. How folding occurs will be explained later in conjunction with Fig. 3.

The capillary channel now opens into the edge of the biosensor

on which fold line 4 lies. Thus, indentation 17 is made in the form of a lens-shaped punched hole 24 in the carrier plate.

The capillary channel formed by upper part 2, lower part 3, and slit 6 can be made as an oblique capillary. For this purpose, the capillary channel becomes wider or narrower from application port 16 to air hole 7. This produces different flow properties. If the capillary channel becomes narrower from application port 16 to air hole 7, then the body fluid flows slowly. If capillary channel 20 become wider from application port 16 to air hole 7, then flow is rapid.

/6

Air hole 7 is necessary, since without it the capillary forces would be insufficient for suctioning the body fluid into capillary channel 20. An enzyme-containing substance is applied to one electrode of each electrode pair, 8 or 11 of electrode pair 8, 11 and 9 or 10 of electrode pair 9, 10. One of the following enzymes can be used: lactate oxidase, glucose oxidase, cholesterase, uricase, xanthine oxidase, peroxidase, urease, aminotransferase, cholesterol oxidase, amino oxidase, glutamate oxidase, creatinine oxidase, creatinine aminohydrolase, and dehydrogenases.

The operating principle of measurement will be discussed in greater detail below.

The sensor in Fig. 2 is produced as follows. First carrier plate 1 is produced, for example by stamping it out of a larger

plate. Suitable materials for the carrier plate include inert plastics, particularly foil material.

Then air hole 7 and punched hole 24 are stamped. A special stamping process is used for punched hole 24, in order to stamp both straight edge surface 18 and oblique edge surface 19 in one step. A two-step knife is used that first stamps out punched hole 24 with a first knife section and then makes oblique edge surface 19 with a second knife section. If the simplified form of twist protection with straight, not exactly flush edges is to be produced, then punched hole 24 must be asymmetrical, for example slightly displaced with respect to fold line 4, so that edge surface 19a is offset slightly with respect to the symmetry to fold line 4. In this case, there is no need to use the special stamping process with the two-step knife.

After the stamping process, a conventional screen process is used to apply a conductive structure that consists of electrodes 8 through 11, contacts 14, and the appropriate conductive connections. Because of its good contact properties, gold is a suitable material for the conductive structure, although graphite, copper, aluminum, silver, platinum, etc. are other possibilities.

Lower part 3 has a section 15 on which contacts 14 are located. This section 15 is made to be inserted into an analysis device.

Using a milling process, section 15 or the adjacent region is

then embossed along the edge of carrier plate 1 for later use as fiber-optical element 21 or 22. When the biosensor is inserted and the analysis device shines light into this fiber-optical element 21 or 22, they shine in the color of the light shining into the elements. This serves as an indicator signal to the patient.

After the fiber-optic element is applied, intermediate layer 5 is applied onto lower part 2 using a screen printing process. First a lacquer layer with a suitable structure is applied. This lacquer is 2-5 mm thick and it leaves the regions of slit 20 and electrodes 8 and 9 free. It serves as a spacer and sticks directly onto lower part 3. A thin adhesive layer is applied to the lacquer. This is a special adhesive that does not harm the enzyme, which is applied later. During printing, the adhesive is also structured in such a way that slit 6 remains free from air hole 7 to punched hole 24. It is also possible to apply intermediate layer 5 formed by the adhesive on upper part 2.

In this step of the process it is possible to interrupt the production process for virtually any period of time. It is necessary only to cover the adhesive of intermediate layer 5 with a protective foil. This has the advantage that the following step, in which a possibly perishable enzyme-containing substance is applied, can be carried out a relatively short time before final distribution of the sensor. In this way, carrier plates 1 can be produced up to this point in advance in large numbers. To complete

the biosensor, a paste-like enzyme-containing substance is applied to electrodes **8** and **9** of lower part **3** or to electrodes **10** and **11** of upper part **2**. The degree of viscosity of this substance is adjusted in such a way that the substance does not run between the electrodes and does not mix. When the viscosity is adjusted in this way, it is possible to apply different pastes to the two electrodes. After application, the pastes are 2 to 11 μm thick.

Then carrier plate **1** is folded together along fold line **4**, whereby the adhesive that serves as intermediate layer **5** bonds lower part **2** to upper part **3**. This folding process is symbolized by arrow **23** in Fig. 3 in which, however, intermediate layer **5** is not shown for the sake of clarity. The biosensor is then ready for use.

The biosensor is then used as follows.

First the biosensor is inserted into an analysis device that connects to contacts **14**, thereby forming a connection to electrodes **8** through **11**.

Then the patient must stick his finger pad in order to obtain a drop of blood if, for example, his blood sugar value is to be determined. The patient then places his finger with the blood drop into indentation **17**. Here, he can make use of the centering function of application port **16** produced by the design of the edge surface. It is not necessary for him to place his finger obliquely on indentation **17**, but rather the edge surface, such as oblique

edge surface 19, guides his finger automatically onto application port 16.

/7

The blood drop is drawn through capillary channel 20 past electrode pairs 11, 12 and 10, 8 by the capillary force, which varies in strength depending on the design of capillary channel 20 as an oblique capillary channel.

The following processes then occur between each electrode pair.

A substance-specific enzyme is present in the paste on one electrode of the electrode pair, so that a redox reaction occurs, in which the electrons of the substance to be determined, such as glucose, are transferred to the enzyme, while the substance under analysis is converted to a metabolite. Then the electrons are transferred from the enzyme in the substance to the electrode, possibly facilitated by a mediator such as ferrocene.

The current produced in this way is measured. Instead of an electrochemical measurement, the conductivity may also be measured.

The electrochemical change is then monitored continuously for a certain period of time. This produces a curve that can be evaluated for various parameters, such as its slope, absolute amplitude, etc. This is known to those skilled in the art.

The analysis device then shows the percentage of the substance under analysis in the blood, based on the measurement results. A qualitative indication regarding the substance can then be given,

such as a "yes" or "no" response to whether some threshold value has been exceeded. A quantitative determination, such as indication of a concentration, is also possible. If an adjustable threshold value is exceeded, it is also possible to give an additional indication or to test the plausibility of the measured result.

The biosensor makes it possible to obtain several measured values from a body fluid, since there are at least two electrode pairs. For this purpose, pastes prepared in different ways with different enzymes are provided on the electrode pairs. Alternatively, it is possible to use one electrode pair for a reference measurement. The reference measurement corresponds to the blood-sugar measurement mentioned above, with the exception that the substance used does not contain the enzyme, but is otherwise as similar in its properties as possible. The reference measurement can also be compared to certain threshold values, for example to make a plausibility check. The reference measurement is then evaluated according to the same criteria as the measurement on the electrode pair with the enzyme-containing paste. The measurement results from the reference measurement are used as a zero value. The accuracy of the measurement can be increased in this way, as is known, for example, from EP-A 0 359 831.

Fiber-optic elements 21, 22 provide information to the patient during the measurement. For example, fiber-optic element 21 can be

connected to a red LED in the analysis device and fiber-optic element 22 to a green LED. In this way, the patient can be shown whether the biosensor is ready for a measurement once it has been inserted into the analysis device. For example, fiber-optic element 21 connected to the green LED can be illuminated during the time the patient can apply the body fluid to application port 16. Once the analysis device has recognized that a sufficient quantity of body fluid has been applied, then fiber-optic elements 21, 22 can be switched, in order to signal to the patient, with a red light for example, that a valid measurement has been made or that the sensor element is not ready to receive additional body fluids.

Claims

1. A biosensor for determining substances in body fluids, particularly blood, having
 - an upper part 2 and a lower part 3 lie one on the other and
 - an intermediate layer 5 between upper part 2 and lower part 3 in which a slit 6 is formed, whereby
 - upper part 2, lower part 3, and slit 6 form a capillary channel 20 that runs from an application port 16 formed at the edge of the biosensor to an air hole 7 in upper part 2 or lower part 3 and
 - electrodes are provided that, together with an enzyme-containing substance, permit an electrochemical measurement for determining the substance under analysis, characterized in that

- both upper part **2** and lower part **3** have at least one electrode **8, 9; 10, 11**, the electrodes opposing each other in pairs in capillary channel **20** and at least one electrode pair having an enzyme-containing substance **11, 13** applied to it.

2. A biosensor as recited in Claim 1, **characterized in that** upper part **2** and lower part **3** are parts of a carrier plate **1** that can be folded together along a fold line **4** at which upper part **2** and lower part **3** are connected to each other.

3. A biosensor as recited in Claim 2, **characterized in that** /8 electrodes **8, 9; 10, 11** are connected via conducting strips to contacts **14**, which lie on upper part **2** and/or lower part **3**, on a section **15** that preferably projects above lower part **3** or upper part **2**, for insertion into an analysis device.

4. A biosensor as recited in Claim 2 or 3, **characterized in that** application port **16** is located on the edge formed by fold line **4**.

5. A biosensor as recited in one of the previous claims, **characterized in that** application port **16** is made in the form of an arched indentation **17** in upper part **2** and lower part **3**.

6. A biosensor as recited in Claim 5, **characterized in that** in lower part **3** indentation **17** has an edge surface **18** that is perpendicular to the deck surface of lower part **3** and in upper part **2** it has an edge surface **19** that is sloped with respect to the deck

surface of upper part 3.

7. A biosensor as recited in Claim 3, **characterized in that** the width of slit 6 in intermediate layer 5 increases or decreases as it proceeds from application port 16, so that capillary channel 20 is made as an oblique capillary channel.

8. A biosensor as recited in Claim 3, **characterized in that** a fiber-optic element 21, 22 is formed on one edge or both edges of upper part 2 or lower part 3 with projecting section 15.

9. A biosensor as recited in one of the previous claims, **characterized in that** the enzyme is selected from the group: lactate oxidase, glucose oxidase, cholesterase, uricase, xanthine oxidase, peroxidase, urease, aminotransferase, cholesterol oxidase, amino oxidase, glutamate oxidase, creatinine oxidase, creatinine aminohydrolase, and dehydrogenases.

10. A process for producing biosensors as recited in one of the previous claims, having the following steps:

a) producing a carrier plate with two parts that can be folded together about a fold line, where one part of the carrier plate forms an upper part and the other part a lower part of the biosensor;

b) forming a passage hole in the carrier plate;

c) applying a conductive structure with electrodes that are connected by conductive traces to contacts on the upper and lower

parts, two electrodes being on the upper part and two electrodes on the lower part; and

d) applying an intermediate layer to the upper or lower part, whereby a slit is provided in the intermediate layer that extends to the hole and above which the electrodes of the upper and lower parts lie.

11. A process as recited in Claim 10, **characterized in that**, after step d), the following step is performed:

e) applying an enzyme-containing paste to each electrode in the slit.

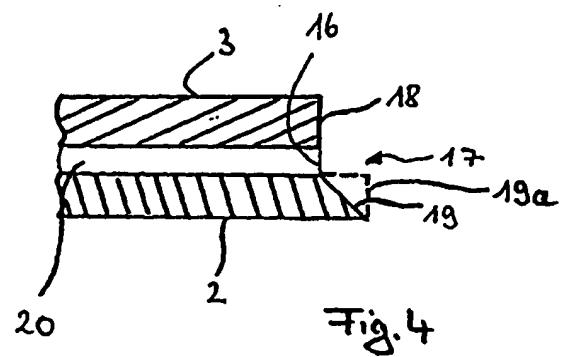
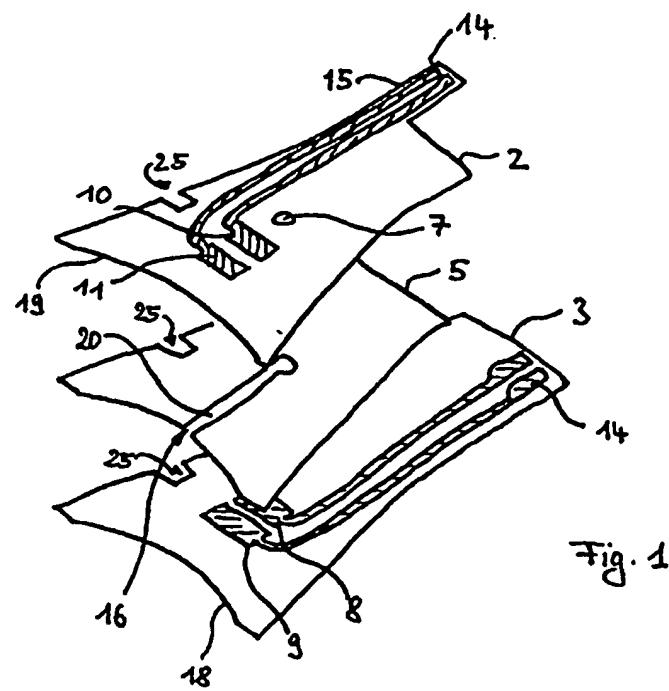
12. A process as recited in Claim 11, **characterized in that**, after step e), the carrier plate is folded together along the fold line, so that the intermediate layer comes to be between the upper part and the lower part and that a capillary channel is formed by the slit, the upper part, and the lower part, in which the electrodes are arranged in opposing pairs in the upper and lower parts.

13. A process as recited in one of the previous claims, **characterized in that**, preferably before step c), a preferably lens-shaped hole is punched into the carrier plate in the region of the fold line, the hole being shaped such that, upon folding, the edge of the hole in the lower part comes to lie in the region of the hole in the upper part and the slit runs to the hole.

14. A process as recited in Claim 13, **characterized in that**,

when the hole is punched, the edge of the hole in the lower part has a perpendicular edge surface and the edge of the hole in the upper part has an oblique edge surface and, upon folding, the edge of the hole in the lower part comes to lie on the edge of the hole in the upper part.

15. Use of the biosensor as recited in one of the Claims 1 through 9 for determining at least one blood value, preferably from the group: blood sugar, urea, lactate, cholesterol, vitamins, troponin, and myoglobin.



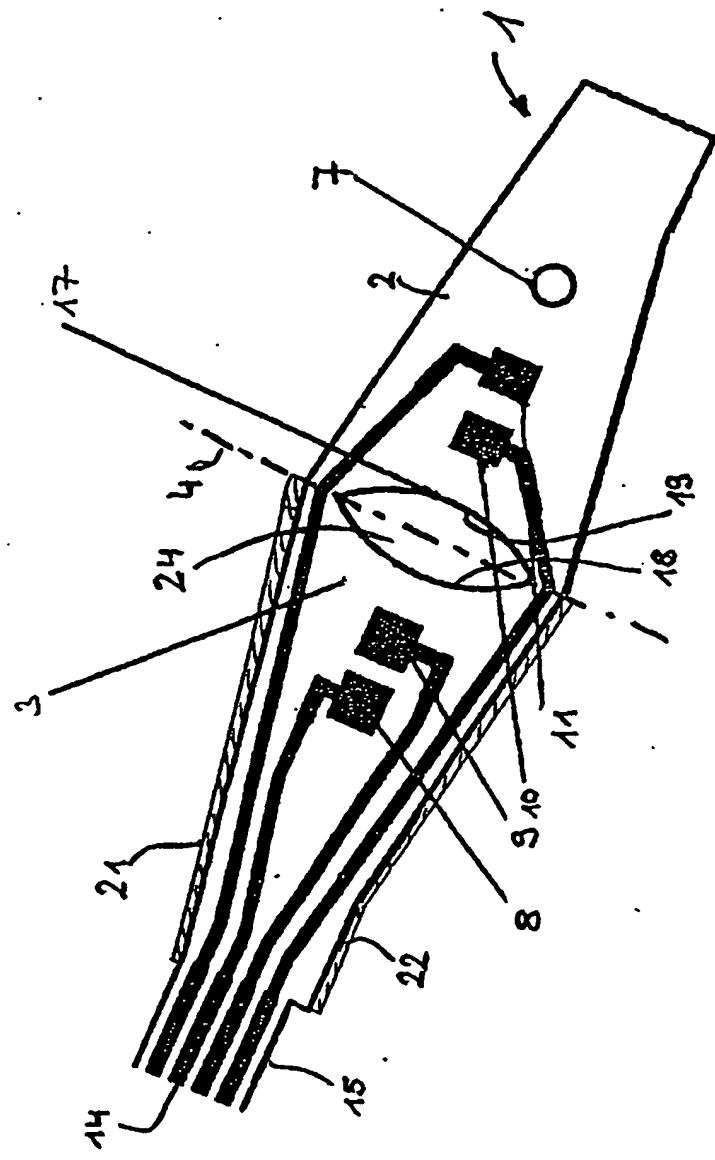


Fig 2

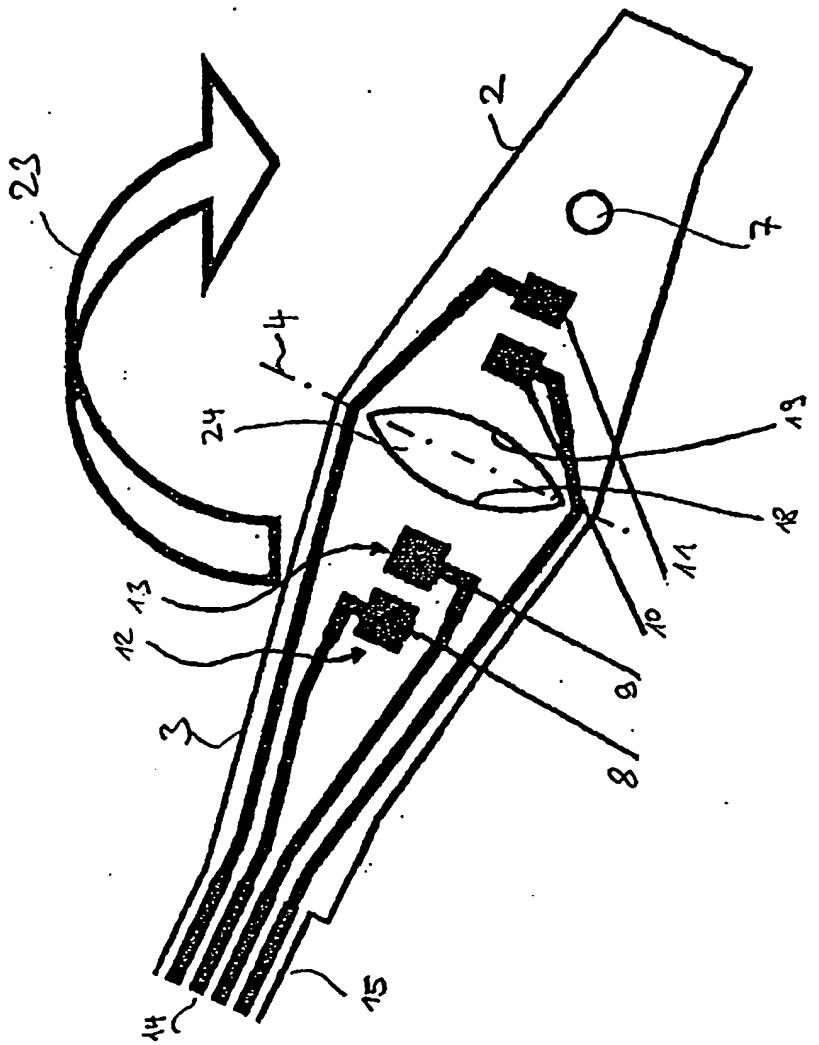


Fig 3